

การติดเชื้อ *Clostridium difficile* และการเปลี่ยนถ่ายอุจจาระ

เดชินท์ ตรีวิโรจน์

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

บทคัดย่อ

การติดเชื้อคลอสตริเดียม ดิฟฟิไซล์ (*Clostridium difficile* infection; CDI) แบบกลับเป็นซ้ำ (recurrent *Clostridium difficile* infection) เป็นปัญหาที่ทวีความรุนแรงมากขึ้นเรื่อยๆ ทั้งในอเมริกาและยุโรป ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิต เสียทรัพย์สิน เสียสุขภาพ และเสียเวลา เป็นจำนวนมาก มีความพยายามหาวิธีในการรักษาการติดเชื้อมีอยู่หลายวิธี เช่น ทดลองใช้ยาปฏิชีวนะตัวใหม่ๆ การรักษาด้วย โพรไบโอติก และการผ่าตัดร่วมกับการให้ยาพบว่าผลการรักษาก็ยังไม่เป็นที่น่าพอใจ จนกระทั่งมีความพยายามรักษาภาวะดังกล่าวด้วยวิธีการเปลี่ยนถ่ายอุจจาระ (fecal microbiota transplantation: FMT) ซึ่งเป็นภูมิปัญญาดั้งเดิมของชาวจีนที่ใช้ในการรักษาภาวะท้องเสีย หรือลำไส้อักเสบรุนแรง พบว่าการเปลี่ยนถ่ายอุจจาระให้ผลการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อ *C. difficile* แบบกลับเป็นซ้ำได้ดี มีอัตราการหายขาดสูง ยังไม่พบภาวะแทรกซ้อนจากการรักษา ปัจจุบัน FDA ของสหรัฐอเมริกาได้ลงความเห็นเห็นว่า FMT จัดเป็นทั้งยาและสารชีวภาพ (drug and biological product) มีไว้เพื่อใช้กับผู้ป่วยติดเชื้อ *C. difficile* แบบกลับเป็นซ้ำ กรณีที่ได้รับการรักษาด้วยวิธีมาตรฐานปัจจุบันแล้วไม่ได้ผล

คำสำคัญ: คลอสตริเดียม ดิฟฟิไซล์, การเปลี่ยนถ่ายอุจจาระ, จุลินทรีย์ประจำถิ่น

ผู้สนับสนุนประสานงาน:

เดชินท์ ตรีวิโรจน์

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

114 ถนนสุขุมวิท ซอยสุขุมวิท 23

แขวงคลองเตยเหนือ เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110

อีเมล: triwiroj_t@yahoo.com

Clostridium difficile infection and fecal microbiota transplantation

Techin Triwiroj

Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

Abstract

Recurrent *Clostridium difficile* infection (CDI) is the very intensive problems in America and Europe. This infection causes high mortality, poor health and loss of time and property. There are several methods using for recovery from the infection such as new antibiotics testing, probiotics using and surgery including medication, but the results are not satisfactory. Fecal microbiota transplantation (FMT), the traditional wisdom of the Chinese people used to treat diarrhea or severe inflammatory bowel, is the one of alternative method to treat this infection. This method results in high recovery rate from recurrent CDI with no complications from treatment. Currently, the United States FDA has determined that in the cases of standard treatment is not effective, FMT is the drug and biological product which intended for using in the patients with recurrent *C. difficile* infection.

Keywords: *Clostridium difficile*, Fecal microbiota transplantation, Normal flora

Corresponding author:

Techin Triwiroj

Department of Microbiology, Faculty of Medicine,

Srinakharinwirot University

114 Sukhumvit Road, Sukhumvit 23,

Wattana, Bangkok 10110 Thailand

E-mail: triwiroj_t@yahoo.com

บทนำ

ลำไส้ของมนุษย์ มีหน้าที่ย่อยและดูดซึมอาหาร โดยทั่วไปภายในลำไส้จะประกอบด้วยจุลินทรีย์ประจำถิ่น (micro flora, microbiota) เป็นจำนวนมาก จุลินทรีย์เหล่านี้อยู่ร่วมกับมนุษย์แบบพึ่งพาอาศัย (symbiotic) โดยมนุษย์ให้ของเหลือจากขบวนการย่อยอาหารและให้ที่อยู่อาศัย จุลินทรีย์ก็ช่วยย่อยอาหารสร้างสารป้องกันจุลินทรีย์ก่อโรค สร้างสารที่มีประโยชน์และกำจัดของเสียบางชนิดให้ จุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้มีจำนวนประมาณ 10-100 ล้านล้านเซลล์ แบ่งได้กว่า 1,100 สปีชีส์ ในหนึ่งคนอาจพบได้ถึง 160 สปีชีส์² ซึ่งจุลินทรีย์ประจำถิ่นจะแตกต่างกันไปตาม เพศ อายุ เชื้อชาติ¹ และอาหารที่รับประทาน³ จุลินทรีย์ประจำถิ่นในแต่ละคนก็จะแตกต่างกันไปตามตำแหน่งของทางเดินอาหาร เช่น หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็กส่วนต้น ลำไส้เล็กส่วนปลาย ลำไส้ใหญ่^{4,5} ทั้งนี้ ความแตกต่างของจุลินทรีย์ประจำถิ่น เป็นไปเพื่อหน้าที่ที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของสารอาหาร จำพวกคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมันและกรดอะมิโน⁶

จากผลการศึกษาเมตาจีโนมิก (metagenomic studies) แสดงให้เห็นว่า ความหลากหลายของสายพันธุ์จุลินทรีย์ประจำถิ่นนั้นมีความเกี่ยวข้องหรือเป็นดัชนีชี้วัดสุขภาพของบุคคลนั้นอย่างมีนัยสำคัญ^{7,8,9} ทั้งนี้จุลินทรีย์ประจำถิ่นที่มีจำนวนมากมักมีประโยชน์กับสุขภาพ เช่น ช่วยส่งเสริมเมตาบอลิซึม เสริมภูมิคุ้มกัน ยับยั้งเซลล์มะเร็ง กระตุ้นการหลั่งสารจากต่อมไร้ท่อ และเกี่ยวข้องกับการทำงานของสมอง จุลินทรีย์ประจำถิ่นที่มีประโยชน์และรู้จักกันดีได้แก่ *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium* cluster XIVa/IV, and *Lactobacillus*^{1,10,11} แต่ด้วยสถานการณ์ดำรงชีพในปัจจุบัน มีหลายปัจจัยที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ เช่น สารที่ปนเปื้อนในอาหาร สารปรุงแต่งอาหาร การติดเชื้อในลำไส้ อาหารเสริม ยาปฏิชีวนะ และสมุนไพร เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนั้นมีหลายแบบ เช่น การลดจำนวนลงของจุลินทรีย์ประจำถิ่น การเปลี่ยนแปลง

ชนิดของจุลินทรีย์และการเปลี่ยนแปลงสารที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นเพื่อคงไว้ซึ่งนิเวศวิทยาที่เหมาะสมภายในลำไส้ นั้น สิ่งต่างๆ ที่เปลี่ยนแปลงไปนี้ ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ ทั้งทางตรงและทางอ้อม^{1,12-14}

การติดเชื้อ *C. difficile*

ตัวอย่างหนึ่งของปัญหาการเปลี่ยนแปลงจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ที่มีความสำคัญ คือ การติดเชื้อคลอสทริเดียม ดิฟฟิไซล์ (*Clostridium difficile* Infection : CDI) ที่มีจำนวนผู้ป่วยเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ทั้งในอเมริกาและยุโรป เชื้อ *C. difficile* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้อากาศ เคลื่อนที่ได้ พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ โดยเฉพาะในดิน ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เชื้อมีรูปร่างยาว (bacilli) ไม่สมมาตร เซลล์มีลักษณะป่องออกในส่วนปลายคล้ายไม้ตีกอล์ฟหรือกระสวยปั่นด้าย (drumstick หรือ spindle-shaped) เมื่อนำเชื้อไปย้อมสีแกรมจะติดสีแดงของแกรมลบ (Gram's negative) เชื้อเจริญได้ดีใน blood agar ที่อุณหภูมิ 37.6 °C

ในภาวะที่ปราศจากออกซิเจน เมื่ออยู่ในภาวะที่แห้งแล้ง เชื้อสามารถสร้างสปอร์ภายใน (endospore) เซลล์ได้ ซึ่งเอนโดสปอร์ที่สร้างขึ้นนี้ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ความร้อนกรด และยาปฏิชีวนะได้ดีกว่าเชื้อปกติ สามารถพบเชื้อนี้ได้ในลำไส้ใหญ่ใน 2-5% ของประชากรปกติ^{15,16}

เชื้อ *C. difficile* สายพันธุ์ที่ก่อโรคสามารถสร้างสารพิษ (exotoxins) ได้หลายชนิด ที่รู้จักกันดีได้แก่ toxin-A ซึ่งเป็น enterotoxin และ toxin-B ซึ่งเป็น cytotoxin สารพิษทั้งสองชนิดทำให้เกิดพยาธิสภาพของท้องเสียและภาวะการอักเสบของลำไส้ในผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อ toxin-A สามารถกระตุ้น neutrophils ได้โดยตรง ส่วน toxin-B จะชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเยื่อหุ้มเทียม (pseudomembranes) ซึ่งพบได้ในเชื้อสายพันธุ์ที่ก่อโรครุนแรง^{17,18} toxin-A และ toxin-B มีคุณสมบัติเป็นเอนไซม์ glucosyltransferase ซึ่งมีคุณสมบัติยับยั้งการทำงานของ

ของโปรตีน Rho ในการสร้าง GTPase Toxin-B (cytotoxin) ชักนำให้เกิดภาวะ depolymerization โดยกลไกจะสัมพันธ์กับการลดลงของขบวนการ ADP-ribosylation ของ GTP-binding Rho protein¹⁹

เชื้อ *C. difficile* ติดต่อได้โดยการรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไป เชื้อที่อยู่ในรูปสปอร์สามารถทนต่อ น้ำยาทำความสะอาดที่มีส่วนผสมของ แอลกอฮอล์ และ น้ำยาทำความสะอาดทั่วไปได้ น้ำยาทำความสะอาดทั่วไปนอกจากจะไม่ทำลายเชื้อแล้วยังกระตุ้นให้เชื้อสร้างสปอร์ ทำให้เชื้อที่มีสปอร์อยู่ภายในมีชีวิตรอดได้นานในสิ่งแวดล้อม เราสามารถเพาะเชื้อดังกล่าวได้จากตัวอย่างที่เก็บจากพื้นผิวต่างๆ จากการศึกษพบว่า โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (sodium hypochlorite) เข้มข้น 0.55% สามารถฆ่าสปอร์ของเชื้อได้และป้องกันการแพร่กระจายไปยังผู้ป่วยได้²⁰ โดยผสม sodium hypochlorite 1 ส่วนกับน้ำ 10 ส่วน ใช้ในการฆ่าสปอร์ของเชื้อ นอกจากนั้นไอของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide vapor: HPV) ยังใช้ทำความสะอาดภายในห้องพักและลดอัตราการติดเชื้อกับผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงลงได้^{21,22} ถ้าได้รับสปอร์เข้าไปในระบบทางเดินอาหาร เชื้อจะผ่านกระเพาะอาหารไปได้ เนื่องจากสปอร์ทนกรดได้ สปอร์สามารถทนน้ำดีจากลำไส้เล็ก และเข้าสู่ลำไส้ใหญ่ ซึ่งมีสภาพแวดล้อมเหมาะสมในการงอกของสปอร์ สปอร์จะงอกเป็นเซลล์ปกติที่ลำไส้ใหญ่ ซึ่งเซลล์ปกติสามารถสร้างสารพิษได้²³

อาการทั่วไปของผู้ติดเชื้อ ในผู้ใหญ่อาการแรกมักจะมีอาการท้องเสียถ่ายเหลวเป็นน้ำ ไม่ต่ำกว่า 3 ครั้งต่อวันหลังจากได้รับยาปฏิชีวนะไม่นาน มีอาการปวดท้อง มีไข้สูง อุจจาระจะมีกลิ่นเหม็นคล้ายปุ๋ยคอกม้า²⁴ สำหรับผู้ป่วยในโรงพยาบาลและที่ได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะแล้ว ต่อมามีอาการท้องเสีย ปวดท้อง พบว่าสาเหตุส่วนใหญ่มาจากการติดเชื้อ *C. difficile* ซึ่งสามารถตรวจได้จาก cytotoxin ของเชื้อ พบผลบวกได้ประมาณ 14%²⁵ ในเด็กมักจะพบอาการท้องเสียถ่ายเป็นน้ำ อย่างน้อย 3 ครั้งต่อวัน อาจมีไข้ และมีอาการ

ปวดท้องร่วมด้วย ในผู้ป่วยเด็กที่มีอาการรุนแรง จะพบการอักเสบของลำไส้อย่างมาก แต่อาจจะมีอาการท้องเสียถ่ายหรือไม่มีอาการท้องเสียเลย²⁶

ผู้ป่วยที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อในกลุ่มนี้ ได้แก่

- ผู้ที่ได้รับยาปฏิชีวนะ ที่มีฤทธิ์กว้างเป็นระยะเวลานานๆ ตัวอย่างกลุ่มของยาปฏิชีวนะที่มีรายงานบ่อยได้แก่ fluoroquinolones, sporins และ clindamycin^{27,28}

- สุขลักษณะสิ่งแวดล้อม พบว่าผู้ป่วยที่มีอุบัติการณ์การติดเชื้อสูงได้แก่ ผู้ป่วยที่พักรักษาตัวอยู่ในโรงพยาบาลเป็นระยะเวลานาน สถานดูแลผู้สูงอายุหรือสถานที่ที่เกี่ยวข้องกับการแพทย์ที่มีผู้ป่วยโรคเรื้อรังจำนวนมาก มีการศึกษาพบว่าผู้ป่วยที่นอนพักรักษาตัวอยู่ในโรงพยาบาล 2 สัปดาห์ มีความเสี่ยงในการพบเชื้อ 13% และจะเพิ่มเป็น 50% เมื่อนอนพักรักษาตัวอยู่ในโรงพยาบาล มากกว่า 4 สัปดาห์²⁹

- การรับประทานยาลดกรด มีการศึกษาพบว่าอัตราการติดเชื้อ *C. difficile* เพิ่มขึ้นเมื่อมีการใช้ยาลดกรด H2-receptor antagonist ประมาณ 1.5 เท่า และเมื่อมีการใช้ยาลดกรด Proton pump inhibitor 1.7 เท่า เมื่อทานวันละ 1 ครั้ง ถ้าทาน PPI วันละ 2 ครั้ง จะมีอัตราเสี่ยงต่อการติดเชื้อเพิ่มเป็น 2.4 เท่า^{30,31}

พยาธิวิทยาของการก่อโรค การใช้ยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์กว้างนั้น ส่งผลทางอ้อมต่อเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นที่อยู่ในทางเดินอาหารด้วย โดยยาปฏิชีวนะดังกล่าวจะออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นในทางเดินอาหารบางส่วนด้วยเช่นกัน เมื่อจุลินทรีย์ประจำถิ่นลดจำนวนลง เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีจำนวนน้อยก็จะเจริญเติบโตขึ้นมาแข่งขันเพื่อแย่งอาหารและพื้นที่ในทางเดินอาหารแทน เชื้อ *C. difficile* ก็เป็นหนึ่งในนั้น เนื่องจากในภาวะปกติ ถึงแม้เชื้อ *C. difficile* จะอยู่ในลำไส้ได้ แต่การมีเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นอยู่เป็นจำนวนมาก จุลินทรีย์ประจำถิ่นนั้นจะคอยควบคุม ยับยั้งการเจริญเติบโตและแบ่งตัวของเชื้อนี้ไว้ไม่ให้เพิ่มจำนวนมากขึ้นแล้วก่อให้เกิดโรค บางท่านมีเชื้ออยู่ในลำไส้โดยไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆ

แต่เชื้อก็สามารถแพร่กระจายไปสู่สิ่งแวดล้อมได้
อย่างไรก็ตามเมื่อมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นของเชื้อ
C. difficile ในลำไส้จะทำให้เกิดการสร้าง toxin-A
และ toxin-B ขึ้น ส่งผลให้เกิดการอักเสบของ
เยื่อผิวของผนังด้านในของลำไส้เป็นอย่างมาก
เกิดการเปลี่ยนแปลงเยื่อผิวของผนังด้านในลำไส้จาก
เดิมไปเป็น ภาวะการอักเสบเยื่อผิวเทียม
(pseudomembranous colitis) ของลำไส้³²
ภาวะการอักเสบของเยื่อผิวลำไส้มีสัมพันธ์กับการติดเชื้อ
อย่างรุนแรง และส่งผลทำให้เกิดปฏิกิริยาของ
การอักเสบตามมากลายเป็น เยื่อผิวเทียม
(pseudomembrane) ซึ่งประกอบด้วยเซลล์ที่
เกี่ยวข้องกับการอักเสบจำนวนมาก ผังผืด และเซลล์ที่
ตายแล้ว¹⁵

การวินิจฉัยการติดเชื้อ *C. difficile* ส่วนใหญ่
ใช้การวินิจฉัยเบื้องต้นโดยการตรวจสอบลำไส้ใหญ่ด้วย
กล้อง colonoscope หรือ sigmoidoscope แล้วพบ
ลักษณะของ pseudomembranous colitis บริเวณ
เยื่อผิวลำไส้ เป็นอาการแสดงที่สำคัญมาก แพทย์จะ
เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อบริเวณดังกล่าวไปตรวจสอบทาง
พยาธิวิทยา ซึ่งจะพบเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ
เซลล์เม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดขาวกับเชื้อที่ตายแล้ว
(exudate) เป็นจำนวนมาก อย่างไรก็ตามการตรวจวิธี
นี้ไม่ได้ถูกต้อง 100% อาจพบผลบวกปลอม (false-
positive) ได้ การตรวจสอบในปัจจุบันจึงนิยมตรวจหา
toxin-A และ toxin-B จากอุจจาระแทน ซึ่งปกติ
เป็นการตรวจวินิจฉัยแรกๆ ที่เลือกใช้ (first line
diagnostic approach) เทคนิคที่ใช้ เช่น enzyme-
linked immunosorbent assay (ELISA) สำหรับ
toxin A หรือ B ซึ่งมีความไวในการตรวจประมาณ
63-99% และมีความจำเพาะประมาณ 93-100%³³
การตรวจหาด้วยวิธีนี้แนะนำให้ตรวจหาทั้ง toxin-A
และ toxin-B ซึ่งจะทำให้ผลการตรวจแม่นยำมากขึ้น^{34,35}
นอกจากการตรวจด้วยเทคนิค ELISA แล้วสามารถ
ตรวจโดยใช้เทคนิคที่เรียกว่า Cytotoxicity assay ได้
โดยอาศัยหลักการที่ว่าพิษของเชื้อ *C. difficile* นั้น

ทำให้เกิด cytopathic effect ต่อ cell culture
ที่เลี้ยงไว้ ซึ่งสามารถทำให้กลับมามีชีวิตในสภาพปกติได้
โดยใช้ antisera ที่เฉพาะกับพิษของเชื้อนั้น วิธีนี้จัดเป็น
gold standard ที่ใช้ในการศึกษาการติดเชื้อ *C. difficile*
ในปัจจุบัน^{15,36} การตรวจอุจจาระ ด้วยวิธีอื่น เช่น
การตรวจหาปริมาณเม็ดเลือดขาวที่เพิ่มมากขึ้นและ
การตรวจหาสาร lactoferrin จากอุจจาระอย่างไร
ก็ตามวิธีดังกล่าวไม่ค่อยมีความแม่นยำมากนัก ในงานวิจัย
ผู้วิจัยอาจใช้เทคนิค PCR (polymerase chain
reaction) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ดีในการตรวจหาสารที่มี
ปริมาณน้อยๆ มีความถูกต้องประมาณ 90% อย่างไร
ก็ตามอาจให้ผลบวกปลอม (false positive) ได้ 4%³⁷
ปัจจุบันมีการพัฒนาการตรวจหาโดยใช้หลักการทาง
น้ำเหลืองวิทยาใช้เทคนิค immunochromatography
test ซึ่งเป็นวิธีทดสอบที่ง่าย สะดวก ให้ผลรวดเร็ว
มีความถูกต้องแม่นยำสูง ซึ่งคิดว่าจะจะเป็นวิธีที่ใช้
แพร่หลายในโรงพยาบาล เพื่อตรวจคัดกรองเบื้องต้นก่อน³⁸

การรักษาผู้ป่วยติดเชื้อ *C. difficile* ในปัจจุบัน
มีแนวทางรักษาตามมาตรฐานดังนี้¹⁰

- รักษาด้วยยาปฏิชีวนะ³⁹⁻⁴¹

กรณีผู้ป่วยเป็นครั้งแรก (initial treatment)
หรือ กลับเป็นซ้ำครั้งแรก (first recurrent) ถ้าผู้ป่วยมี
อาการน้อยถึงปานกลาง (mild/moderate) ให้
รับประทาน metronidazole (500 mg) ครั้งละ 1 เม็ด
วันละ 3 เวลา (เช้า-กลางวัน-เย็น) หลังอาหาร 7-10 วัน
ถ้าผู้ป่วยมีอาการมาก (severe) ให้รับประทาน
vancomycin (125 mg) ครั้งละ 1 เม็ด วันละ 4 เวลา
(เช้า-กลางวัน-เย็น) หลังอาหารและก่อนนอน 7-10 วัน
ถ้าผู้ป่วยมีอาการมากและมีภาวะแทรกซ้อน (severe/
complicated) ให้รับประทาน vancomycin (500 mg)
ครั้งละ 1 เม็ด วันละ 4 เวลา (เช้า-กลางวัน-เย็น)
หลังอาหารและก่อนนอน ร่วมกับให้ metronidazole
(500 mg) หยอดเข้าทางเส้นเลือดวันละ 3 ครั้ง
(เช้า-กลางวัน-เย็น) 7-10 วัน กรณีที่เป็นผู้ป่วยมีอาการ
ติดเชื้อซ้ำครั้งที่ 2 ทุกอาการ ให้ vancomycin ปริมาณ
ตามเหมาะสม จากการศึกษาพบว่า ผู้ป่วยติดเชื้อ

C. difficile ประมาณ 20% จะมีการติดเชื้อซ้ำ (recurrent infection) หลังจากการรักษาครั้งแรก และจะมีอัตราการติดเชื้อซ้ำอีกประมาณ 40-65% หลังจากมีการติดเชื้อซ้ำครั้งแรก¹¹ ปัจจุบันมีการทดลองใช้การรักษาใหม่ๆ ในการรักษาการติดเชื้อนี้ เช่น rifaximin, fidaxomicin, IVIG, vaccination against toxins A+B, anti-toxin vaccine ผลจากการรักษายังอยู่ในขั้นตอนการเก็บข้อมูล⁴²⁻⁴⁷

- รักษาด้วยโพรไบโอติก (probiotic treatment)^{40,48}

มีข้อมูลการรักษาการติดเชื้อ *C. difficile* ด้วยโพรไบโอติกอยู่ แต่เนื่องจากผลการรักษายังไม่แน่ชัด ปัจจุบันจึงแนะนำให้รักษาด้วยแผนปัจจุบันร่วมกับโพรไบโอติก (กรณีที่ต้องการรักษาด้วยโพรไบโอติก)

- รักษาด้วยการเปลี่ยนถ่ายอุจจาระ (Fecal microbiota transplantation; FMT)²²

เป็นการรักษาโดยการเปลี่ยนถ่ายอุจจาระจากผู้ให้ซึ่งมีสุขภาพดี ไปยังผู้รับที่มีปัญหาการติดเชื้อ *C. difficile* แบบกลับเป็นซ้ำ (recurrent infection) ทั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อปรับจุลินทรีย์ประจำถิ่นทำได้โดยหลายวิธี เช่น การใช้ colonoscope นำเข้าไปโดยการสวน การรับประทานในรูปแคปซูล การให้ผ่านสายสวน เข้าทางเดินอาหารส่วนต่างๆ

- รักษาด้วยการผ่าตัด (surgery)⁵⁰

ในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ *C. difficile* ทำให้เกิดภาวะลำไส้อักเสบอย่างรุนแรง พบว่าการผ่าตัดลำไส้บริเวณที่มีการติดเชื้อออกบางส่วนให้ผลการรักษาที่ค่อนข้างน่าพอใจ การพิจารณาว่าผู้ป่วยรายใดควรได้รับการรักษาแบบผ่าตัดร่วมด้วยให้พิจารณาเป็นรายๆ ไป โดยพิจารณาถึงผลได้ ผลเสียที่เกิดขึ้น

ในประเทศไทยมีการศึกษาความชุกของการติดเชื้อ *C. difficile* โดยการเก็บตัวอย่างอุจจาระจากผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วง จำนวน 433 ตัวอย่าง ระยะเวลาการเก็บตัวอย่างตั้งแต่ พ.ศ. 2549-2556 พบเชื้อ 63 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 14.55 พบเชื้อในเพศหญิงมากกว่าเพศชาย⁵¹ นอกจากนั้นยังพบว่าผู้ป่วยที่มี

อาการท้องเสียจากยาปฏิชีวนะ (antibiotic-associated diarrhea) ที่เข้ารับการรักษานในโรงพยาบาล มักเกิดจากการติดเชื้อ *C. difficile* ประมาณร้อยละ 20 ซึ่งผู้ป่วยที่ท้องเสียในกลุ่มนี้อาจเสียชีวิตได้ โดยเฉพาะในทารก เด็ก และผู้สูงอายุ ซึ่งมีความเสี่ยงของการเสียชีวิตจากอาการท้องเสียที่รุนแรงและเรื้อรัง⁵² ถึงแม้ว่าผู้ป่วยติดเชื้อ *C. difficile* แบบกลับเป็นซ้ำจะมีรายงานในประเทศไทยน้อย แต่เนื่องจากการใช้ยาปฏิชีวนะในประเทศไทยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมาก และเป็นไปอย่างไม่มีเหตุผลอันสมควร นั้นย่อมเป็นความเสี่ยงที่จะพบผู้ป่วยในกลุ่มนี้มากขึ้นในอนาคต

การเปลี่ยนถ่ายอุจจาระ

ทฤษฎีการรักษาภาวะการติดเชื้อในลำไส้โดยการเปลี่ยนถ่ายอุจจาระมีหลักการเบื้องต้นก็คือ เมื่อจุลินทรีย์ ประจำถิ่นในทางเดินอาหารมีการเปลี่ยนแปลง หรือลดจำนวนลงจากสาเหตุใดก็ตาม ย่อมส่งเสริมให้เชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่เดิมมีอยู่จำนวนน้อย และถูกควบคุมได้ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นนั้น มีการเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนมากขึ้น แทนที่ ส่งผลทำให้เกิดโรคจากภาวะการติดเชื้อจุลินทรีย์ ดังกล่าว ถ้าเรากำจัดเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคโดยใช้ยาปฏิชีวนะที่แรงและมีฤทธิ์กว้าง ก็ทำให้เชื้อก่อโรคตายได้ แต่ทั้งนี้เชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นส่วนใหญ่ในลำไส้ก็ตายเช่นกัน ทำให้ในเวศวิทยาของเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้เปลี่ยนไป ง่ายต่อการติดเชื้อก่อโรคอื่นๆ หรือง่ายต่อการติดเชื้อ *C. difficile* ซ้ำ ดังนั้น สิ่งที่เราต้องทำหลังจากกำจัดเชื้อ *C. difficile* แล้วก็คือ การปรับเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นให้กลับมามีลักษณะเดิมหรือใกล้เคียงของเดิมมากที่สุด เพื่อให้จุลินทรีย์ประจำถิ่นนี้ควบคุมเชื้อก่อโรคที่อยู่ในทางเดินอาหารเองต่อไป ซึ่งการเปลี่ยนถ่ายจุลินทรีย์ประจำถิ่นเป็นวิธีการที่เป็นคำตอบที่พยายามกระทำอยู่ในปัจจุบัน

ด้วยมีข้อมูลสนับสนุนค่อนข้างชัดเจน ว่าการรักษาภาวะการติดเชื้อ *C. difficile* ด้วยยาปฏิชีวนะนั้น ไม่ได้ทำให้ผู้ป่วยหายหายทุกราย มีผู้ป่วยหลายรายที่มีภาวะการติดเชื้อซ้ำ (recurrent infection) ซึ่งสร้างความลำบาก ทุกข์ทรมาน สูญเสียเงินและเวลาต่อผู้ที่ได้รับการรักษา บางรายอาจเสียชีวิตในภายหลังจากภาวะแทรกซ้อน มีรายงานผู้ป่วยในสหรัฐอเมริกาติดเชื้อ *C. difficile* เกิดขึ้น 8 ราย ใน 100,000 ราย และเพิ่มเป็น 4-8 ราย/1,000 รายของผู้ป่วยที่นอนพักรักษาอยู่ในแผนกผู้ป่วยวิกฤติของโรงพยาบาล⁵³ ในปี 2008 สหรัฐอเมริกามีการประเมินงบประมาณที่ต้องสูญเสียไปกับการรักษาผู้ป่วย *C. difficile* พบว่ามีจำนวนมากกว่า 4,800 ล้านเหรียญ^{54,55} ปี 2011 พบว่ามีการติดเชื้อ *C. difficile* ประมาณ 500,000 ราย เสียชีวิต 29,000 คนในสหรัฐอเมริกา⁵⁶ จึงมีการค้นหาวิธีการรักษาที่ให้ผลดี ลดการติดเชื้อซ้ำของผู้ป่วย และลดภาวะแทรกซ้อนของผู้ป่วย ปัจจุบันการรักษาที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมาก คือการรักษาการติดเชื้อในทางเดินอาหารโดยวิธีเปลี่ยนถ่ายอุจจาระ fecal microbiota transplantation (FMT) ซึ่งพบว่าเมื่อผู้ป่วยได้รับการรักษาโดยวิธีนี้มีโอกาสหายขาดได้ถึง 90% และ ปัจจุบันการรักษาด้วยวิธีนี้ได้รับการยอมรับจาก FDA (Food and drug Administration) ของอเมริกา และกระทรวงสาธารณสุขของแคนาดาแล้ว^{57,58} การใช้อุจจาระเพื่อรักษาโรคไม่ใช่เป็นความรู้ใหม่ หลักฐานการใช้ครั้งแรกพบในบันทึกของจีนในสมัยราชวงศ์จิ้น (jin dynasty) ประมาณศตวรรษที่ 4 มีแพทย์ที่มีชื่อเสียงของสมัยนั้น ชื่อ Ge Hong ได้บันทึกการรักษาโดยวิธีการใช้อุจจาระมาทำเป็นซุ๊ป ให้ผู้ป่วยที่มีภาวะท้องเสียรุนแรงดื่มเพื่อรักษาอาการท้องเสียนั้น ซึ่งให้ผลการรักษาออกมาเป็นที่น่าพอใจ⁵⁹ ต่อมาในสมัยราชวงศ์หมิง (ming dynasty) ประมาณศตวรรษที่ 16 มีการบันทึกการรักษาของแพทย์ที่ใช้อุจจาระมาทำเป็นซุ๊ป เรียกว่า “yellow soup” หรือ “golden syrup” รักษาอาการปวดท้องหรือท้องเสียรุนแรง⁶⁰

ในศตวรรษที่ 17 นักกายภาพชาวอิตาลีเลียน ชื่อ Fabricus Aquapendente ใช้ FMT เป็นยารักษาสัตว์ รายงานแรกในปัจจุบันเป็นรายงานการศึกษาของ Eiseman และคณะในปี 1958⁶¹ ที่รายงานผู้ป่วย Pseudomembranous colitis (ก่อนที่จะพบว่าเกิดจากการติดเชื้อ *C. difficile*) ซึ่งผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยการสวนและปลูกถ่ายอุจจาระจากผู้ให้เข้าไปในลำไส้ ทำให้อาการติดเชื้อในลำไส้ดีขึ้น ส่วนรายงานการใช้ FMT รักษาภาวะการติดเชื้อ *C. difficile* ครั้งแรกมีรายงานไว้ในปี 1983⁶²

การคัดเลือกผู้ให้ (donor) อุจจาระ ต้องตรวจสอบความเสี่ยงเกี่ยวกับโรคติดเชื้อ เช่น AIDS, โรคตับอักเสบ B หรือ C โรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ ประวัติการเข้ายาทุกชนิดโดยเฉพาะยาปฏิชีวนะ การสัก (tattoo) หรือเจาะตามร่างกาย (body piercing) ภายใน 6 เดือน ประวัติโรคที่เคยเป็นมา ประวัติการเดินทางเข้าไปในพื้นที่เสี่ยงติดเชื้อ ผู้ให้ที่มีประวัติเป็นโรคลำไส้อักเสบ ลำไส้แปรปรวน (IBS) ท้องผูก ท้องเสีย ตึงเนื้อในลำไส้ มะเร็งในทางเดินอาหาร ผู้ให้ที่มีประวัติผ่าตัดทางเดินอาหาร ผู้ป่วยที่เป็นโรคเกี่ยวข้องกับเมตาบอลิก และภูมิคุ้มกันจะไม่รับเป็นผู้ให้ ผู้ให้ที่ดีต้องไม่เคยได้รับยาปฏิชีวนะหรือยากดภูมิคุ้มกันมาก่อนอย่างน้อย 3 เดือน^{63,64} ผู้ให้ต้องได้รับการตรวจเลือดเพื่อทดสอบการติดเชื้อตับอักเสบ B และ C, Anti-HIV, VDRL ตรวจอุจจาระเพื่อตรวจหาพยาธิหรือตัวอ่อนพยาธิ ตรวจหา *C. difficile* ด้วย PCR รวมถึงการเพาะเลี้ยงเชื้อ และทดสอบความไวต่อยาถ้าพบเชื้อด้วย ตรวจหาเชื้อ *Giardia* sp. โดยตรวจ Ag ผู้ให้จะต้องเซ็นตัสสัญญายินยอมทำตามที่กำหนด ทั้งนี้จะทำประกันการเจ็บป่วยให้ถ้าเกิดความผิดพลาดใดๆ

วิธีการเปลี่ยนถ่ายอุจจาระ เริ่มจากเตรียมอุจจาระใหม่ 200-300 กรัม ที่ได้จากผู้ให้ไม่เกิน 4-6 ซม. (สามารถใช้อุจจาระแช่แข็งได้ แต่ประสิทธิภาพจะลดลงไป) มาผสมน้ำหรือน้ำเกลือและนำไปปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นกรองเอาตะกอนออก การเตรียมลำไส้ของผู้รับ

(recipient) ทำได้โดยทำความสะอาดลำไส้กำจัดเชื้อที่ก่อโรคที่หลงเหลืออยู่ให้หมด เพื่อเตรียมรับจุลินทรีย์ประจำถิ่นใหม่จากผู้ให้⁶⁵ วิธีการเปลี่ยนถ่ายอุจจาระให้ผู้รับทำได้หลายวิธีได้แก่ให้ทางสาย nasoduodenal,⁶⁶ ให้ทาง transgastroscope, ทาง transcolonoscope หรือ การสวน (enema)⁶⁷ การให้ทางสาย nasoduodenal มีข้อเสียคือ ผู้ป่วยอาจจะอาเจียนได้ง่ายกว่าการให้ทางลำไส้ colonoscope^{68,69} ซึ่งผู้ป่วยจะรับอุจจาระที่เปลี่ยนถ่ายได้ง่ายกว่า มีรายงานความสำเร็จในการเปลี่ยนถ่ายอุจจาระด้วยวิธีการต่างๆ ไปได้ การเปลี่ยนถ่ายโดยการสวนถ่ายอุจจาระประสบความสำเร็จ 95% การเปลี่ยนถ่ายอุจจาระทาง colonoscope ประสบความสำเร็จ 89% ส่วนวิธีการเปลี่ยนถ่ายอุจจาระทาง nasoduodenal ความสำเร็จ 76%^{70,71} การเปลี่ยนถ่ายอุจจาระที่ใช้รักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *C. difficile* แบบกลับเป็นซ้ำนั้นให้ผลสำเร็จในการรักษาอย่างน่าพอใจ โดยมีจำนวนผู้ป่วยที่หายขาดประมาณ 87-90% จาก 500 กว่ารายที่มีการรายงาน⁷²⁻⁷⁵ มีข้อมูลทางวิชาการสนับสนุนการใช้การเปลี่ยนถ่ายอุจจาระในการรักษาการติดเชื้อ *C. difficile* ว่าเป็นวิธีที่ปลอดภัยลดการติดเชื้อซ้ำและให้ผลการรักษาที่ดีในขณะที่มีผลข้างเคียงน้อย⁷⁶ การเปลี่ยนถ่ายอุจจาระได้รับการยอมรับจาก American College of Gastroenterology ในปี 2013 ให้ใช้รักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *C. difficile* ได้เมื่อเชื้อไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา vancomycin⁷⁷ ปัจจุบันมีการพัฒนารูปแบบของการเปลี่ยนถ่ายอุจจาระ โดยการทำอุจจาระให้แห้งเป็นผงในสภาพเย็นโดยขบวนการ freeze dry แล้วบรรจุลงในเม็ดแคปซูลใช้รับประทานเหมือนยานยาทั่วไป นักวิจัยกำหนดว่ามาตรฐานของอุจจาระที่ผ่านขบวนการเตรียมแล้วไม่ควรมีสี ไม่ควรมีกลิ่น ควรประกอบด้วยจุลินทรีย์จากเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ที่ยังมีชีวิตอยู่⁷⁸ ในปี 2012 ทีมวิจัยจากมหาวิทยาลัย MIT (Massachusetts Institute of Technology) ได้จัดตั้งหน่วยงาน

OpenBiome ขึ้นเพื่อทำหน้าที่เป็นธนาคารเก็บอุจจาระในสหรัฐอเมริกา⁷⁹ หน่วยงานนี้มีหน้าที่สนับสนุนจัดเตรียมอุจจาระแช่แข็งเพื่อใช้รักษาการติดเชื้อ *C. difficile* ให้นักวิจัยใช้ทำการวิจัย และแพทย์ผู้รักษาเพื่อใช้รักษาผู้ป่วย ข้อมูลจากโรงพยาบาล Massachusetts ที่มีการแนะนำให้ใช้จุลินทรีย์ประจำถิ่นแบบบอบแห้งในแคปซูลกับผู้ป่วยติดเชื้อ *C. difficile* ที่กลับเป็นซ้ำวันละ 2 ครั้ง มีผลทำให้ผู้ป่วยหายได้ประมาณ 90%⁸⁰

สรุป

FDA ของสหรัฐอเมริกาได้ลงความเห็นว่าย FMT จัดเป็นทั้งยาและสารชีวภาพ (biological product and drug) มีไว้เพื่อใช้กับผู้ป่วยติดเชื้อ *C. difficile* ที่กลับเป็นซ้ำซึ่งทำการรักษาด้วยวิธีมาตรฐาน ปัจจุบันแล้วไม่ได้ผล^{57,81,82} ผลการรักษาด้วยวิธีดังกล่าวให้ผลเป็นที่น่าพอใจมีอัตราการหายขาด 85-90% การรักษาด้วยการเปลี่ยนถ่ายอุจจาระเป็นที่ยอมรับมากขึ้น โดยเฉพาะเป็นการยอมรับในลักษณะเหมือนการรักษาแบบธรรมชาติ ซึ่งมีค่าใช้จ่ายถูก ไม่มีผลข้างเคียงที่เคยรายงาน⁷⁶ อย่างไรก็ตามเนื่องจากข้อมูลหลังการใช้งานยังมีอยู่น้อยมาก มีการศึกษาอยู่ไม่กี่ปี จึงไม่ทราบผลระยะยาวถึงการเอาเชื้อจากบุคคลคนหนึ่งไปให้อีกบุคคลหนึ่ง อย่างไรก็ตามมีกลุ่มวิจัยกลุ่มหนึ่งกำลังศึกษาการสร้าง อุจจาระสังเคราะห์ (synthetic stool) มีภายในบรรจุเชื้อที่ทราบดีว่ามีความปลอดภัยสูงไว้จะเอามาใช้แทนอุจจาระจากผู้ให้⁸³ ซึ่งจะช่วยให้ควบคุมความเสี่ยงของการติดเชื้ออื่นที่ไม่ต้องการให้มากขึ้น ความพยายามในการเรียนรู้และการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับนิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในทางเดินอาหารเกี่ยวกับเรื่องพยาธิสภาพของการก่อให้เกิดโรคนี้อีก ข้อมูลที่ได้เราอาจใช้มันเพื่อการรักษาโรคทางเดินอาหารอื่นๆที่ยังเป็นปัญหาอยู่ เช่น necrotizing enterocolitis, liver disease, colorectal cancer, esophageal and gastric adenocarcinoma ได้ในอนาคต⁸⁴⁻⁸⁹

เอกสารอ้างอิง

- Hellister E, Gao C, Versalovic J. Compositional and functional features of the gastrointestinal microbiome and their effects on human health. *Gastroenterology* 2014;146:1449-58.
- Qin J, Li R., Raes J, Arumugam M, Burgdorf K, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010;464:59-65.
- David L, Maurice C, Carmody R, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 2014; 505:559-63.
- Eckburg P, Bik E, Bernstein C, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 2005;308:1635-8.
- Nava G, Friedrichsen H, Stappenbeck T. Spatial organization of intestinal microbiota in the mouse ascending colon. *ISME J* 2011;5: 627-38.
- Harrell L, Wang Y, Antonopoulos D, et al. Standard colonic lavage alters the natural state of mucosal-associated microbiota in the human colon. *PLoS One* 2012;7(2) : 1
- Gill S, Pop M, Deboy R, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science* 2006; 312: 1355-9.
- Wang , Hoenig J, Malin K, et al. 16s rRNA gene-based analysis of fecal microbiota from preterm infants with and without necrotizing enterocolitis. *ISME J* 2009;3: 944-54.
- Claesson M, Jeffery I, Conde S, et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature* 2012;488:178-84.
- Mills K. TLR-dependent T cell activation in autoimmunity. *Nat Rev Immunol* 2011;11: 807-22.
- Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature* 2012; 489: 242-49.
- Dethlefsen L, Relman D. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proceeding of the National Academy of Science of the U S A* 2011;108(Suppl. 1): 4554-61.
- Jalanka-Tuovinen J, Salonen A, Nikkilä J, et al. Intestinal microbiota in healthy adults: temporal analysis reveals individual and common core and relation to intestinal symptoms. *PLoS One* 2011;6(7):1
- Cho I, Blaser M. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nature Rev Genet* 2012;13: 260-70.
- Ryan KJ, Ray CG. *Sherris Medical Microbiology* (4th ed.). McGraw Hill;2004. p. 322-4.
- Lessa FC, Gould CV, McDonald LC. Current status of *Clostridium difficile* infection epidemiology. *Clin Infect Dis* 2012; 55 (Suppl 2): S65-70.
- Mahida YR, Makh S, Hyde S, Gray T, Borriello SP. Effect of *Clostridium difficile* toxin A on human intestinal epithelial cells: induction of interleukin 8 production and apoptosis after cell detachment. *Gut* 1996;38(3):337-47.

18. Lyras D, O'Connor JR, Howarth PM, et al. Toxin B is essential for virulence of *Clostridium difficile*. *Nature* 2009;458 (7242):1176-9.
19. Just I, Selzer J, von Eichel-Streiber C, et al. The low molecular mass GTP-binding protein Rh is affected by toxin a from *Clostridium difficile*. *J Clin Invest* 1995;(3):1026-31.
20. Savidge TC, Urvil P, Oezguen N, et al. Host S-nitrosylation inhibits clostridial small molecule-activated glucosylating toxins. *Nature Med* 2011;17(9):1136-41.
21. Roehr B. Alcohol rub, antiseptic wipes inferior at removing *Clostridium difficile*. *Medscape*; 21 September 2007.
22. Laidman J . Flush with germs: lidless toilets spread *C. difficile*. *Medscape*; 29 December 2011.
23. Rupnik M, Wilcox MH, Gerding DN. *Clostridium difficile* infection: New developments in epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol* 2009;7(7):526-36.
24. Bomers MK, Menke FP1, Savage RS, et al. Rapid, Accurate, and On-Site Detection of *C. difficile* in Stool Samples. *Am J Gastroenterol* 2015;110 (4):588-94.
25. Just I, Selzer J, von Eichel-Streiber C, Aktories K . The low molecular mass GTP-binding protein Rh is affected by toxin a from *Clostridium difficile*. *J Clin Invest* 1995;95(3): 1026-31.
26. Moreno MA, Furtner F, Rivara FP. *Clostridium difficile* : A Cause of Diarrhea in Children. *JAMA Pediatr* 2013;167(6):592.
27. Luciano, JA; Zuckerbraun, BS. *Clostridium difficile* infection: prevention, treatment, and surgical management. *Surg Clin North Am* 2014;94(6):1335-49.
28. Scientists probe whether *C. difficile* is linked to eating meat. *CBC News*. 2006-10-04. Archived from the original on 24 October 2006.
29. Clabots CR, Johnson S, Olson MM, Peterson LR, Gerding DN. Acquisition of *Clostridium difficile* by hospitalized patients: evidence for colonized new admissions as a source of infection. *J Infect Dis* 1992;166(3): 561-7.
30. Howell MD, Novack V, Grgurich P, Soullard D, Novack L, Pencina M, Talmor . Iatrogenic gastric acid suppression and the risk of nosocomial *Clostridium difficile* infection. *Arch Intern Med* 2010;170(9):784-90.
31. Deshpande A, Pant C, Pasupuleti V, Rolston DD, Jain A, Deshpande N, Thota P, Sferra TJ, Hernandez AV. Association between proton pump inhibitor therapy and *Clostridium difficile* infection in a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012;10(3):225-33.
31. Sarah A. Kuehne, Stephen T. Cartman, John T. Heap, Michelle L. Kelly, Alan Cockayne & Nigel P. Minton. The role of toxin A and toxin B in *Clostridium difficile* infection. *Nature* 2010;467(7316):711-3.
32. *Surgical Pathology Criteria. Pseudomembranous Colitis*. Stanford School of Medicine;2009. p.1-5
34. Anna S. Researchers knock down gastro bug myths. *ABC Science Online*; 2009. Retrieved 2009-03-02.

35. Lyras D, O'Connor JR, Howarth PM, Sambol SP, Carter GP, Phumoonna T, Poon R, Adams V, Vedantam G, Johnson S, Gerding DN, Rood JI . Toxin B is essential for virulence of *Clostridium difficile*. *Nature* 2009;458 (7242):1176-9.
36. Murray PR, Baron EJ, Pfaller EA, Tenover F, Tenover FC, ed. *Manual of Clinical Microbiology* (8th ed.). Washington DC: ASM Press;2003.
37. Deshpande A, Pasupuleti V, Rolston DD, Jain A, Deshpande N, Pant C, Hernandez AV. Diagnostic accuracy of real-time polymerase chain reaction in detection of *Clostridium difficile* in the stool samples of patients with suspected *Clostridium difficile* Infection: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2011;53(7):e81-90.
38. Samra Z, Madar-Shapiro L, Aziz M, Bishara J. Evaluation of a new immunochromatography test for rapid and simultaneous detection of *Clostridium difficile* antigen and toxins. *Isr Med Assoc J* 2013;15(7):373-6.
39. Brown WR. Fecal microbiota transplantation in treating *Clostridium difficile* infection. *J Dig Dis* 2014;15(8):405-8.
40. Na X, Kelly C. Probiotics in *Clostridium difficile* Infection. *J Clin Gastroenterol* 2011;45(Suppl):S154-8.
41. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, et al. Guidelines for Diagnosis, Treatment, and Prevention of *Clostridium difficile* Infections. *Am J Gastroenterol* 2013;108 (4):478-98.
42. Johnson S, Schriever C, Galang M, et al. Interruption of recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea episodes by serial therapy with vancomycin and rifaximin. *Clin Infect Dis* 2007;44(6):846-8.
43. Hecht DW, Galang MA, Sambol SP, et al. *In vitro* activities of 15 antimicrobial agents against 110 toxigenic *Clostridium difficile* clinical isolates collected from 1983 to 2004. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51(8):2716-9.
44. Louie TJ, Miller MA, Mullane KM, et al. Fidaxomicin versus vancomycin for *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med* 2011;364(5):422-31.
45. Lowy I, Molrine DC, Leav BA, et al. Treatment with monoclonal antibodies against *Clostridium difficile* toxins. *N Engl J Med* 2010; 362(3):197-205.
46. Wang H, Sun X, Zhang Y, et al. A chimeric toxin vaccine protects against primary and recurrent *Clostridium difficile* infection. *Infect Immun* 2012;80(8):2678-88.
47. Foglia G, Shah S, Luxemburger C, et al. *Clostridium difficile*: development of a novel candidate vaccine. *Vaccine* 2012;30(29):4307-9.
48. Pillai A, Nelson R, Pillai A. Probiotics for treatment of *Clostridium difficile*-associated colitis in adults. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2008; 1(23):250-300.
49. Borody TJ, Khoruts A. Fecal microbiota transplantation and emerging applications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012;9(2):88-96.

50. Osman KA, Ahmed MH, Hamad MA, Mathur D . Emergency colectomy for fulminant *Clostridium difficile* colitis: Striking the right balance. Scand J Gastroenterol 2011;46(10):1222-7.
51. ปิยะดา หวังรุ่งทรัพย์, ธนิตชัย คำแสง, และคณะ. การศึกษาความชุกของเชื้อ *C. difficile* โดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อและตรวจแยกชนิดของ toxin genes โดยวิธี multiplex polymerase chain reaction (mPCR). วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ 2557; 47(2): 97-106.
52. Putsathit P, Kiratisin P, Ngamwongsatit P, et al. *Clostridium difficile* infection in Thailand. Int J Antimicrob Agents 2015; 45(1):1-7.
53. Domino FJ, Bador RA. The 5-minute clinical consult 2014 (22nd ed.). Philadelphia: Wolters Kluwer Health/ Lippincott Williams & Wilkins;2014. p. 258.
54. Bartlett J, Gerding D. Clinical recognition and diagnosis of *Clostridium difficile* infection. Clin Infect Dis 2008;46(Suppl. 1):S12-18.
55. Kelly C, Lamont J. *Clostridium difficile* – more difficult than ever. N Engl J Med 2008;359:1932-40.
56. Lessa FC1, Mu Y, Bamberg WM. Burden of Infection in the United States. N Engl J Med 2015;372(9): 825-34.
57. FDA. Draft Guidance for industry: E n f o r c e m e n t p o l i c y r e g a r d i n g investigational new drug requirements for use of fecal microbiota for transplantation to treat *Clostridium difficile* infection not responsive to standard therapies. Silver Spring, MD: US Food and Drug Administration;2014.
58. Health Canada. Guidance Document : Fecal Microbiota Therapy Used in the Treatment of *Clostridium difficile* Infections. Ottawa, ON: Health Canada;2015.
59. Zhang F, Luo W, Fan Z, et al. Should we standardize the 1700 year old fecal microbiota transplantation. Am J Gastroenterol 2012;107(10);1755
60. Zhou H, Bei JF. Ge H. Tianjin : Tianjin Science & Technology Press; 2000.
61. Eiseman B, Silen W, Bascom GS, et al. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. Surgery 1958;44(5):854-9.
62. Schwan A, Sjolín S, Trottestam U, et al. Relapsing *Clostridium difficile* enterocolitis cured by rectal infusion of homologous faeces. Lancet 1983;2(8354):845.
63. Bakken JS, Borody T, Brandt LJ, et al. Treating *Clostridium difficile* infection with fecal microbiota transplantation. Clin Gastroenterol Hepatol 2011;9(12):1044-9.
64. Karlsson FH, Fak F, Nookaew I, et al. Symptomatic atherosclerosis is associated with an altered gut metagenome. Nature Communications 2012;3:1245.
65. Borody TJ, Paramsothy S, Agrawal G. Fecal microbiota transplantation: indications, methods, evidence, and future directions. Current Gastroenterology Reports 2013;15(8):337.
66. Persky SE, Brandt LJ (2000). Treatment of recurrent *Clostridium-difficile*-associated diarrhea by administration of donated stool directly through a colonoscope. Am J Gastroenterol. 95 (11): 3283-5.

67. Eiseman B, Silen W, Bascom GS, et al. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery* 1958;44(5):854-9.
68. Lund-Tonnesen S, Berstad A, Schreiner A, et al. *Clostridium-difficile*-associated diarrhea treated with homologous feces". *Tidsskr nor Laegeforen* 1998;118(7):1027-30.
69. Cammarota G, Masucci L, Ianiro G, et al. Randomised clinical trial: faecal microbiota transplantation by colonoscopy vs. vancomycin for the treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2015;41(9):835-43.
70. Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2011;53(10): 994-1002.
71. Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M; et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2003;368(5):407-15.
72. Kassam Z, Lee C, Yuan Y, et al. Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108:500-8.
73. Van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2013;368:407-15.
74. Cammarota G, Ianiro G, Gasbarrini A. Fecal microbiota transplantation for the treatment of *Clostridium difficile* infection: a systematic review. *J Clin Gastroenterol* 2014;48:693-702.
75. Rossen N, Fuentes S, Van Der Spek M, et al. Findings from a randomized controlled trial of fecal transplantation for patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2015;149:110-8.
76. Kelly C, Kahn S, Kashyap P, et al. Update on fecal microbiota transplantation 2015: indications, methodologies, mechanisms, and outlook. *Gastroenterology* 2015;149:223-7.
77. Surawicz C, Brandt L, Binion D, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol* 2013; 108:478-98.
78. Hamilton MJ, Weingarden AR, Sadowsky MJ, et al. Standardised frozen preparation for transplantation of fecal microbiota for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Am J Gastroenterol* 2012;107: 761-7.
79. Smith, Peter Andrey (17 Feb 2014). A New Kind of Transplant Bank. *The New York Times*. Retrieved 2014-07-10.
80. Youngster I, Russell G, Pindar C, et al. Oral, capsulized, frozen fecal microbiota transplantation for relapsing *Clostridium difficile* infection. *JAMA* 2014;312:1772-8.
81. Smith MB, Kelly C, Alm EJ. Policy: How to regulate faecal transplants. *Nature* 2014;506(7488):290-1
82. AGA Confirms IND is required for fecal microbiota transplantation, American Gastroenterological Association, 6 May 2013.

83. Petrof EO, Gloor GB, Vanner SJ, et al. Stool substitute transplant therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection: repopulating' the gut. *Microbiome* 2013;1(1):3
84. Dicksved J, Lindberg M, Rosenquist M, et al. Molecular characterization of the stomach microbiota in patients with gastric cancer and in controls. *J Med Microbiol* 2009;58:509-16.
85. Yang L, Lu X, Nossa C, et al. Inflammation and intestinal metaplasia of the distal esophagus are associated with alterations in the microbiome. *Gastroenterology* 2009;137:588-97.
86. Claud E, Keegan K, Brulc J, et al. Bacterial community structure and functional contributions to emergence of health or necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Microbiome* 2013;1:20.
87. Couturier-Maillard A, Secher T, Rehman A, et al. NOD2-mediated dysbiosis predisposes mice to transmissible colitis and colorectal cancer. *J Clin Invest* 2013;123:700-11.
88. Llopis M, Cassard-Doulcier A, Bosch L, et al. Intestinal dysbiosis explains inter-individual differences in susceptibility to alcoholic liver disease. Abstract presented at the International Liver Congress. *J Hepatol* 2014;60(Suppl.):1-598.
89. Buie T. Potential etiologic factors of microbiome disruption in autism. *Clin Ther* 2015;37:976-83.